

アフィニティークロマトグラフィー担体
セルファイン サルフェイト

テクニカルデータシート



JNC 株式会社

ライフケミカル事業部

東京都千代田区大手町二丁目 2 番 1 号

TEL : 03-3243-6150 Fax : 3-3243-6219

e メール: cellufine@jnc-corp.co.jp

<http://www.jnc-corp.co.jp/fine/jp/cellufine/>

セルファイン サルフェイト

ウイルス、ウイルス由来の抗原タンパク質、血清タンパク質およびヘパリン結合性タンパク質の精製に利用できます。

ウイルスやウイルス由来の抗原タンパク質を精製・濃縮することでワクチン製剤や診断薬へと利用するというニーズが高まっています。セルファインサルフェイトは簡単な操作で、再現性良くウイルス粒子を精製・濃縮することができます。

ウイルス精製で使用されている密度勾配超遠分離は時間がかかる点、再現性がとりにくい点、安全性の観点から煩雑な操作が必要ですが、セルファインサルフェイトを使用することでこれらの問題を解決できます。

セルファインサルフェイトはデキストラン硫酸、コンドロイチン硫酸およびヘパリンなどを固定化した担体と比較して、コスト、リガンドの低溶出性、再現性の観点から優れた精製パフォーマンスを発揮します。

セルファインサルフェイトに結合した目的物は、イオン強度をステップワイズまたはグラジエントによって増加させるだけで容易に溶出できます。

特徴

- 生ウイルス、不活化ウイルス、スプリットされたウイルスいずれにもアフィニティー活性があります。その他にもウイルス由来抗原、細菌由来抗原、ヘパリン結合性タンパク質とアフィニティーがあります。
- クロマトグラフィーの工程は密閉されているため、安全性が高く、目的物を微生物のコンタミネーションから守ります。またセルファインサルフェイトはエンドトキシンとは吸着ないため、混在したエンドトキシンの除去にも有効です。
- セルロースをベースとするため物理的に強固で、耐久性が高いという特徴を持ちます。
- オートクレーブが可能です。

ベネフィット

- 密度勾配超遠心法よりも効率的に精製対象物から培養液や宿主細胞由来の夾雑物を除くことができます。
- 密閉されたクロマトグラフィー工程でウイルス精製が可能のため、安全性の高い精製工程となります。
- クロマトグラフィーで精製するため、密度勾配遠心分離と比較して、精製と濃縮が同時に達成できます。従ってリードタイムの短縮とコストの削減に寄与します。
- 中性付近の穏やかな条件で吸着、溶出が可能のため、収率の向上を実現できます。
- 高い耐圧性を持つため、高流速での操作が可能です。また製造スケールの大型カラムでの使用実績も豊富なため、スケールアップが容易です。
- 化学薬品への耐久性もあるため、例えばホルマリンを用いた滅菌も可能です。

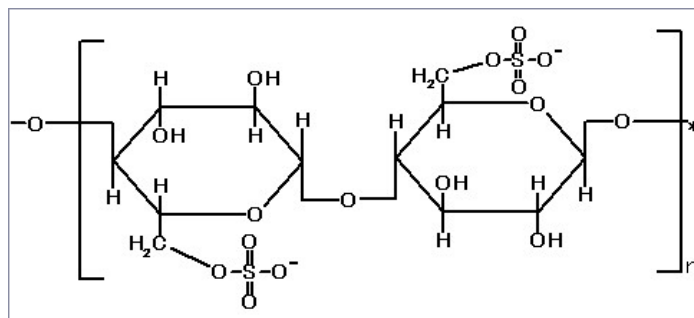


Figure 1
Partial Structure of Cellufine Sulfate

特徴

ベース基材	セルロース
粒径サイズ	40 - 130 μm
粒子形状	真球状
排除限界分子量	約 3kD
リガンド	硫酸エステル基
硫黄含量	>700 $\mu\text{g/g dry}$
タンパク質吸着量:	
卵白リゾチーム	>3 mg/ml
B型肝炎ウイルス表面抗原 (HBS)	7 mg/ml
化学薬品耐性	0.1M NaOH, 0.1 % of 37 % Formalin
操作圧	<2 bar (30 psi)
オートクレーブ使用条件	30分、121°C、中性バッファー浸漬
保存方法	20 %エタノールに懸濁

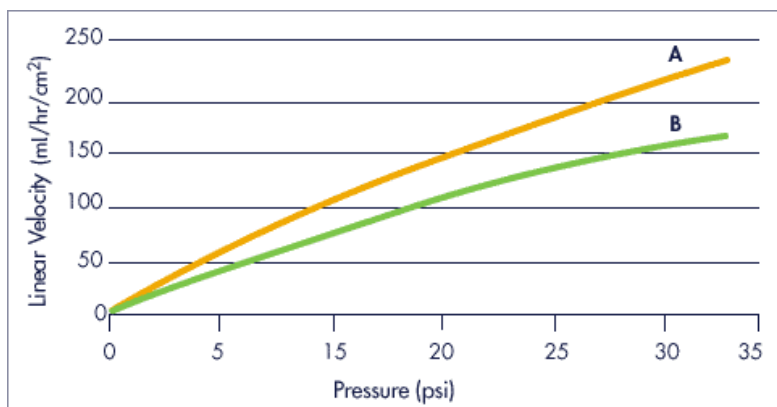


Figure 2
Pressure/Flow Curves

大型カラムでの耐圧試験

Column A: 90 x 200 mm

Column B: 350 x 200 mm

吸着実績のあるウイルス例およびウイルス由来/細菌由来抗原

ウイルス	Viral/Microbial Agents
<ul style="list-style-type: none"> ・ 狂犬病ウイルス ・ インフルエンザウイルス ・ 日本脳炎ウイルス ・ ネコ白血病ウイルス (FeLV) ・ ネコヘルペスウイルス ・ ネコカリシウイルス ・ RS ウイルス ・ ヒトヘルペスウイルス ・ 麻疹ウイルス ・ ヒトパラインフルエンザウイルス 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 単純ヘルペス gA gB ・ B 型肝炎ウイルス表面抗原 (HBS) ・ 百日咳菌由来ヘマグルチニン ・ インフルエンザウイルスヘマグルチニン

Table 1

There are many applications of Cellufine Sulfate in the concentration or purification of viral and microbial antigens, proteins and viruses.

狂犬病ウイルスの精製例

Fig. 3 はセルファインサルフェイトによってニワトリ胚組織の培養液から狂犬病ウイルスを濃縮・精製した実施例を示しています。

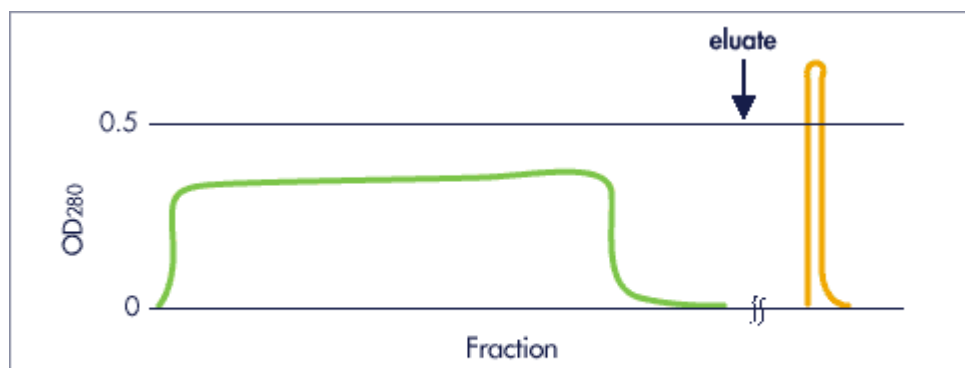


Figure 3

Purification of Rabies virus from chick embryo tissue culture fluid

カラム : 50 x 70 mm (140 ml)

洗浄バッファー : 0.01M Phosphate (pH 7.2)

溶出バッファー : 1M NaCl/0.01M Phosphate (pH 7.2)

	ロード サンプル	溶出液
液量 (ml)	4,200	50
ウイルス活性	32	4,096
タンパク質量 (µg/ml)	8.5	14
収率 (%)	100	152
精製倍率		79x
濃縮倍率		126x

Table 2
Concentration and Purification of virus with Cellufine Sulfate

インフルエンザウイルスの精製例

インフルエンザウイルスを培養した鶏卵由来尿膜液を 33.3mL のセルファイン サルフェイトに直接ロードした後、溶出させた結果、94.5%のウイルス活性を維持したまま回収することができました。

	液量 (ml)	ウイルス活性	タンパク質量 µg/ml	回収率 (%)	精製倍率
尿膜液	4200	77	337.1	100	1
洗浄液	6700	1	209.2	2.1	-
溶出液	170	1797	448.0	94.5	20.1

Table 3
Purification of Influenza virus from hen's egg allantoic fluid

カラム： 50 x 170 mm
 平衡化バッファー： 0.01M Phosphate pH 7.4
 洗浄バッファー： 0.01M Phosphate pH 7.2 + 0.2M NaCl
 溶出バッファー： 0.01M Phosphate pH 7.0 + 1.5M NaCl

抗原タンパク質の精製と脱ピロジェン

セルファイン サルフェイトはエンドトキシンを吸着させません。この特徴によりウイルスや細菌性の抽出物からエンドトキシンを除去するのに適したクロマトグラフィー充填剤と言えます。Fig. 4 では百日咳菌由来の繊維状ヘマグルチニン（FHA）の精製事例を紹介しています。

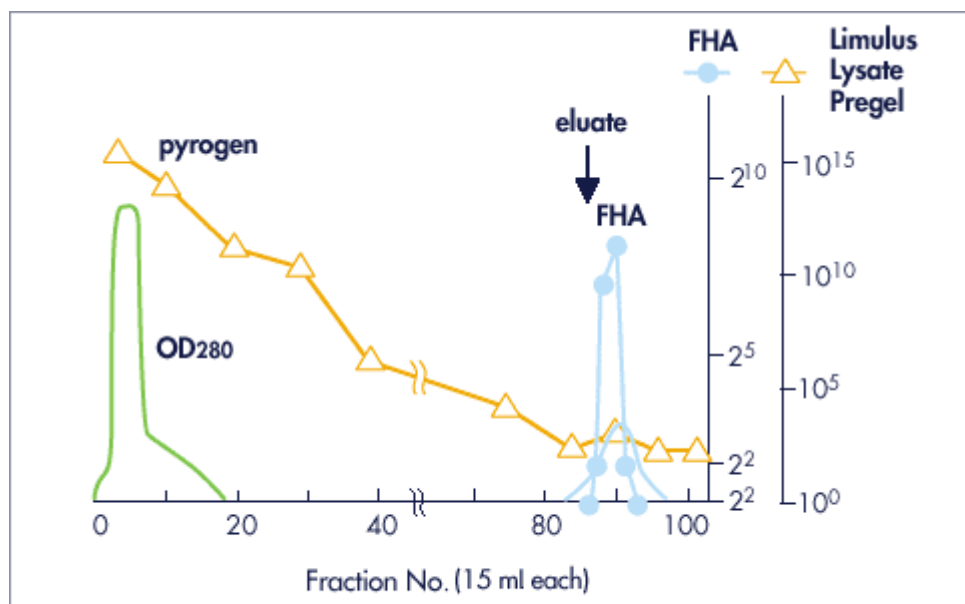


Figure 4
Purification of filamentous hemagglutinin from *B. pertussis*

カラム :	16 x 70 mm (20 ml)
サンプル :	800 ml <i>B. pertussis</i> culture fluid (endotoxin titer > 10 ¹⁵ by Limulus lysate test)
平衡化バッファー :	0.01M Phosphate (pH 7.6)
溶出バッファー :	1M NaCl/0.01M Phosphate (pH 7.6)
FHA 収量 :	94%
精製倍率 :	20x
濃縮倍率 :	28x (30 ml product)
エンドトキシン :	リムルステスト、ウサギ、マウスの発熱試験において基準レベル以下となった。

タンパク質精製例

セルファイン サルフェイトはヘパリンやデキストラン硫酸のミメティック構造を有するため、これらの化合物と結合する血清由来タンパク質、細胞内増殖因子、リパーゼなどとアフィニティー活性があります。

吸着するタンパク質例	吸着しないタンパク質例
<ul style="list-style-type: none"> ・ アンチトロンビン III ・ β-リポプロテイン ・ 補体 C5, C6, C8 ・ 補体 C3 活性因子 ・ トリプシン ・ トリプシンインヒビター ・ キモトリプシノーゲン ・ リゾチーム ・ ウレアーゼ ・ カタラーゼ ・ ファクター IX 	<ul style="list-style-type: none"> ・ アルブミン ・ α-リポプロテイン ・ 補体 C3, C9 ・ 補体 C1, C3b 不活化因子 ・ γグロブリン ・ セルロプラスミン ・ α2-マクログロブリン ・ リボヌクレアーゼ ・ バシトラシン ・ グルコースオキシダーゼ
グラジエントモードで溶出することで良好な分離を実現することができます。	

Table 4

ウシ胸腺からのカゼインキナーゼ II の精製例（部分精製されたサンプルを使用）

カラム：	10 x 20 mm
サンプル：	7 ml
平衡バッファー：	50mM Tris-HCl (pH 7.9) + 50mM MgCl ₂ + 0.1mM EDTA + 0.1mM PMS + 0.5mM DTT + 25 % glycerol
溶出バッファー：	0.05 - 1.0M NaCl in buffer

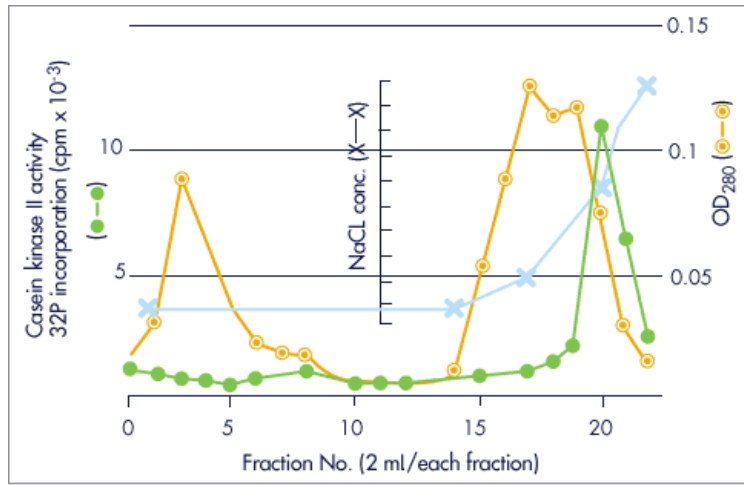


Figure 5

ご注文の案内

製品名	容量	カタログ No.
セルファイン サルフェイト	5 x 1ml (mini-column)	19845-51
	1 x 5ml (mini-column)	19845-15
	10 ml	676 943 324
	50 ml	19845
	500 ml	19846
	5 L	19847
	10 L	19849

お問い合わせ

(テクニカルサポート)

(北米)

JNC America Incorporated
 555 Theodore Fremd Avenue, Suite C-206
 Rye, NY 10580 USA
 TEL: 914-921-5400
 FAX: 914-921-8822
 E-mail: cellufine@jncamericany.com

(日本、アジア、その他)

JNC株式会社
 ライフケミカル事業部
 〒100-8105
 東京都千代田区大手町二丁目2番1号
 新大手町ビル9階
 Tel: +81-3-3243-6150
 Fax: +81-3-3243-6219
 E-mail: cellufine@jnc-corp.co.jp

(購入のご依頼)

(North America & Europe)

JNC America Incorporated
 555 Theodore Fremd Avenue, Suite C-206
 Rye, NY 10580 USA
 TEL: 914-921-5400
 FAX: 914-921-8822
 E-mail: cellufine@jncamericany.com

(日本、アジア、その他)

JNC株式会社
 ライフケミカル事業部
 〒100-8105
 東京都千代田区大手町二丁目2番1号
 新大手町ビル9階
 Tel: +81-3-3243-6150
 Fax: +81-3-3243-6219
 E-mail: cellufine@jnc-corp.co.jp